Iranian Journal of Animal Science Research
Vol. 11, No. 4, Winter 2020, p. 425-436

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
جلد 11، شماره 4، زمستان 1398، ص. 436-425

تعیین ظرفیت بافری برخی ترکیبات آلکالایزری و بافری معدنی بومی و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی

سید مرتضی وقار سیدین[1]، محسن مجتهدی[2*]، سید احسان غیاثی[2] و محمدحسن فتحی نسری[3]

تاریخ دریافت : 1397/04/10
تاریخ پذیرش: 1397/07/17

چکیده

آزمایشی طی دو مرحله با هدف بررسی ظرفیت و شاخص ارزش بافری برخی ترکیبات بافری و آلکالایزری بومی و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی انجام شد. نمونه‌های مختلف اکسید منیزیم، کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم از معادن بومی استان خراسان جنوبی و یک نمونه بیکربنات سدیم به عنوان رایج‌ترین بافر مورد استفاده در تغذیه دام تهیه شد. در مرحله اول pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری نمونه‌ها و در مرحله دوم فراسنجه‌های تخمیر و تولید گاز با دو سطح یک و سه درصد از نمونه‌های منتخب و در روش کشت ثابت شکمبه‌ای اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده از مرحله‌ی اول نشان داد که بیشترین مقدار pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری مربوط به نمونه‌های اکسید منیزیم بود که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار آماری داشت. در مرحله دوم آزمایش بیشترین مقدار تولید گاز پس از 96 ساعت انکوباسیون مربوط به سطح 3 و 1 درصد بیکربنات سدیم و کربنات منیزیم، و کمترین مقدار مربوط به سطح 3 درصد اکسید منیزیم بود. بالاترین مقدار pH و ماده خشک ناپدید شده پس از 24 ساعت انکوباسیون به‌ترتیب در سطح 3 درصد اکسید منیزیم و سطح 1 درصد کربنات منیزیم مشاهده شد. علاوه بر این ترکیبات مورد آزمایش بر غلظت نیتروژن آمونیاکی در طول 24 ساعت انکوباسیون تأثیری نداشتند. بطور کلی نتایج این پژوهش بیان می‌کند که ترکیبات آلکالایزری و بافری بومی، به لحاظ ویژگی‌های بافری تفاوت‌های زیادی داشته و نمونه‌های کربنات منیزیم بدون داشتن ظرفیت بافری بالا قادرند قابلیت هضم را بهبود ببخشند.

واژه‌های کلیدی: اکسید منیزیم، بنتونیت سدیم، ظرفیت بافری، قابلیت هضم، کربنات منیزیم.

مقدمه

امروزه اساسی‌ترین چالش در صنعت دامپروری به کارگیری جیره‌هایی با منابع خوراکی موجود، بدون مختل کردن اکوسیستم شکمبه، آسایش و عملکرد دام‌ها است. همه ساله بروز اسیدوز تحت حاد شکمبه‌ای ضررهای هنگفتی به صنعت دامپروری وارد می‌نماید. جیره‌هایی با کنسانتره بالا اغلب pH شکمبه و هضم فیبر را کاهش می‌دهد. نیاز به مواد بافری در جیره نشخوارکنندگان تابعی از ترشح بزاق، ظرفیت بافری مواد خوراکی و اسیدیته خوراک است (13).

سال‌های زیادی است که مکمل‌های بافری و آلکالایزری در جیره‌ی گاوهای شیری به دلیل تأثیر مثبت بر تولید و پیشگیری از اسیدوز مورد استفاده قرار می‌گیرند. در دام بافرها می‌توانند از طریق تولید اندوژنوس (از طریق بزاق) و یا از طریق بافرهای جیره (عمدتاً بیکربنات سدیم)، تامین شوند (11). بافرها موادی هستند که تمایل دارند در برابر تغییرات pH در هنگام اضافه شدن مقدار کم اسید یا باز مقاومت نمایند. از جمله مکمل‌هایی که در جیره به عنوان بافر مورد استفاده قرارمی‌گیرند می‌توان به بیکربنات سدیم، سنگ آهک (کربنات کلسیم)، بنتونیت سدیم، کربنات منیزیم و اکسید منیزیم اشاره کرد. افزودن برخی بافرها مانند بیکربنات سدیم، کربنات منیزیم و بیکربنات پتاسیم فقط سبب خنثی کردن اسیدیته شکمبه می‌شود. درحالی‌که برخی ترکیبات علاوه بر این امر سبب افزایش pH شکمبه می‌شوند. بافرهای حقیقی از افزایش اسیدیته جلوگیری می‌کنند، اما pH را بالاتر از حد معینی نمی‌برند. بیکربنات سدیم، کربنات کلسیم، بنتونیت سدیم و کربنات منیزیم بافرهای حقیقی هستند. ترکیبات بازی کننده (آلکالایزر) با اضافه شدن به محیط محلول می‌توانند باعث افزایش

1-دانشجوی دکترا تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
2-استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
3- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.73860
(* - نویسنده مسئول: Email: mojtahedi@birjand.ac.ir)

pH شوند. از جمله این ترکیبات می‌توان به اکسید منیزیم اشاره نمود که یک بافر حقیقی نیست. مصرف بافرها باعث کاهش بروز اسیدوز در گاوهایی که با کنسانتره بالا تغذیه می‌شوند، می‌گردد. اما پاسخ‌های حیوانات در استفاده از بافرها بسیار متفاوت است (17).

مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از بافرها در تغذیه دام شرایط محیطی شکمبه را بهبود بخشیده و به‌وسیله تعدیل اسیدیته شکمبه از افت pH جلوگیری می‌کنند. بیکربنات سدیم و اکسید منیزیم اثرات مثبتی بر بافری کردن شکمبه و عملکرد دام‌ها داشته‌اند. بیکربنات سدیم یک بافر ایده‌آل است که ثابت تفکیک اسیدی (pK) آن برابر 6/25 است، یعنی در pH معادل 6/25 این بافر می تواند اسمولاریته شکمبه را افزایش دهد و به این ترتیب نوع اسیدهای چرب فرار را تحت تأثیر قرار دهد (29). کربنات منیزیم به طور معمول از استخراج سنگ معدن منیزیت بدست می‌آید. در موارد نادر، این کانی ممکن است به طور مستقیم آسیاب شود و به عنوان منبع خوراکی منیزیم عرضه شوند. در این صورت، فراهمی منیزیم آن بسیار پایین است. استفاده اولیه از کربنات منیزیم تولید اکسید منیزیم از طریق فرآیند کلسینه کردن (احیا، اکسیداسیون و سوزاندن یا حرارت دادن با گرمای شدید) است (7). به طور معمول اکسید منیزیم به عنوان نمک منیزیم در جیره‌های گاوهای شیری با دارا بودن مقدار منیزیم بین 51 تا 59 درصد استفاده می‌شود. همچنین این نمک‌ها در جیره‌ی گاوهای شیری به منظور قلیایی کردن اکوسیستم شکمبه-نگاری زمانی که مقدار علوفه جیره کمتر از حد نرمال و زمانی که مکمل منیزیم مورد نیاز است، گنجانده می‌شوند (37). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد یکی از پیامدهای اصلی کمبود منیزیم در کاهش هضم علوفه و سلولز مشاهده می‌شود. همچنین استفاده از منیزیم سبب بهبود فعالیت باکتری‌های سلولیتیک در شرایط کشت ثابت شده است (8 و 31). در برخی گزارشات استفاده از کربنات منیزیم سبب بهبود شرایط تخمیر و افزایش جمعیت پروتوزوآیی گردیده، این درحالی است که استفاده از اکسید منیزیم تولید گاز در شرایط برون‌تنی را کاهش داده است (38 و 39). همچنین ترکیب اکسید منیزیم و بیکربنات سدیم سبب افزایش pH شکمبه و کاهش تولید گاز در شرایط آزمایشگاهی شده است (30). بنتونیت سدیم یک ماده معدنی از دسته رس‌ها یا شبه رس‌ها است و از کانی‌های متورم شونده تشکیل شده، که عموما حاوی مونتموریلونیت و به مقدار کم بیدلیت است (26). خصوصیات ویژه بنتونیت از قبیل آبگیری، تورم و افزایش حجم با جذب آب، ویسکوزیته، ظرفیت بالای تبادل یونی و باند شدن با کاتیون‌های مختلف، آن را به ماده با ارزشی برای محدوده وسیعی از کاربردها در صنعت و سیستم‌های پرورشی و مزرعه‌ای تبدیل کرده است (2). مجتهدی (27) با بررسی تأثیر بنتونیت‌سدیم بر تخمیر و هضم شکمبه ای در شرایط برون‌تنی گزارش کرد که این ترکیب سبب افزایش pH و کاهش قابلیت هضم ماده خشک گردید. کشور ایران و به‌ویژه استان خراسان‌جنوبی، به لحاظ معادن مختلف از جمله منیزیت، کائولینیت، بنتونیت و سایر کانی های غیرفلزی بسیار غنی می‌باشد، اما متاسفانه به دلیل عدم شناخت و آگاهی کافی از ترکیبات و ویژگی-های آن‌ها، استفاده مؤثری از این ترکیبات نمی‌شود. این در حالی است که سالیانه حجم عظیمی از همین ترکیبات معدنی طبیعی و با فراوری خاص (به عنوان مکمل دامی و غیره) با برندهای مختلف تجاری، به کشور وارد می‌شود (26). هدف از انجام این مطالعه بررسی ظرفیت و شاخص ارزش بافری برخی ترکیبات بافری و آلکالایزری استان خراسان جنوبی (در مقایسه با جوش‌شیرین تجاری به عنوان متداول‌ترین ترکیب بافری) و تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه‌ها و طرح آزمایشی

نمونه‌های معدنی مورد استفاده در این تحقیق به روش استاندارد نمونه‌گیری از برخی معادن استان خراسان جنوبی تهیه شد. نمونه‌های گرفته شده شامل 4 نوع کربنات و اکسید منیزیم، 2 نوع بنتونیت سدیم و یک نمونه بیکربنات سدیم تجاری به عنوان رایج‌ترین مکمل بافری بود. سپس نمونه‌ها توسط آسیاب مخصوص پودر و با استفاده از الک با مش 18 (با قطر منافذ 1 میلی‌متر) غربال شدند و نمونه‌ها برای آنالیزهای آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفتند. این آزمایش شامل دو مرحله بود. در مرحله‌ی اول مقدار pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری نمونه‌ها تعیین شد (3 تکرار برای هر فراسنجه). نمونه-های مورد بررسی در این مرحله شامل 4 نوع کربنات منیزیم (کربنات منیزیم A، کربنات منیزیم B، کربنات منیزیم C و کربنات منیزیم D)، 4 نوع اکسید منیزیم (اکسید منیزیم A، اکسید منیزیم B، اکسید منیزیم C و اکسید منیزیم D) ، 2 نوع بنتونیت سدیم (بنتونیت سدیم A و بنتونیت سدیم B) و یک نمونه بیکربنات سدیم بود. برای انجام مرحله‌ی دوم آزمایش ترکیبات منتخب در مرحله‌ی اول که بیشترین مقدار ظرفیت بافری را داشتند جهت افزودن به محیط کشت ثابت و بررسی تأثیر آن‌ها بر فراسنجه‌های تخمیر و هضم شکمبه‌ای در سطوح یک و سه درصد (برحسب ماده خشک) استفاده شدند.

اندازه‌گیری pH، ظرفیت و شاخص ارزش بافری

درصد رطوبت نمونه‌ها براساس روش ذکر شده در ASTM D2974-00 محاسبه گردید (5). مقدار pH توسط pHمتر (مدل METROHM 727 PH LAB)، بر اساس توصیه ذکر شده در ASTM D4972-1 اندازه‌گیری شد (6). ظرفیت بافری طبق روش

محرری (25) محاسبه گردید. جهت اندازه‌گیری این فراسنجه مقدار نیم گرم از هر نمونه (براساس ماده خشک) به داخل بشر حاوی 30 میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر اضافه و توسط مگنت به آرامی مخلوط شد. سپس توسط اسید هیدروکلریک و هیدروکسید سدیم تا رسیدن به pHهای 5 و 7 تیتراسیون انجام شد. در انتها بر اساس مقدار اسید و باز مصرفی ظرفیت بافری هر نمونه طبق معادله زیر اندازه‌گیری شد.

$$BC = (\text{ml of 1N HCl}) + (\text{ml of 1N NaOH}) \times 10^3/30$$

شاخص ارزش بافری براساس پروتکل توکر و همکاران (36) اندازه گیری شد، که به شرح ذیل است:

$$BVI = 100 + (10 \times ((((\text{antilog}_{10}(-STPH)) - (\text{antilog}_{10}(-SAPH))) / (\text{antilog}_{10}(-STPH)) + ((SABC-STBC/STBC))$$

STPH = pH استاندارد 6 ، SAPH = اسیدیته اولیه محلول نمونه، STBC = ظرفیت بافری استاندارد 50 میلی‌اکی‌والان در لیتر، SABC = ظرفیت بافری محلول نمونه

جدول 1- اجزا و ترکیب شیمیایی جیره (درصد ماده خشک)

Table 1- Ingredient and chemical composition of basal diet (% of dry matter)

اجزای جیره Diet ingredients	مقدار Amount
کاه گندم Wheat straw	20
ذرت آسیاب شده Corn ground	40
جو آسیاب شده Barley ground	40
ترکیب شیمیایی جیره Chemical composition of diet	
چربی خام Crude fat	1.26
پروتئین خام Crude protein	9.18
خاکستر Ash	7.8
فیبر نامحلول در شوینده خنثی Neutral detergent fiber (NDF)	25.2
فیبر نامحلول در شوینده اسیدی Acid detergent fiber (ADF)	13.56
کربوهیدارت‌های غیر فیبری[1] Non-fiber carbohydrates (NFC)[1]	56.55

[1]کربوهیدرات‌های غیر فیبری :100- (فیبر محلول در شوینده خنثی + درصد پروتئین خام + درصد چربی خام + درصد خاکستر)

[1] NFC= 100 – (NDF+ CP + EE + Ash)

جیره آزمایشی

جیره پایه در آزمایش تولید گاز و کشت ثابت شامل مخلوطی از کاه گندم، ذرت و جو بود که پس از آسیاب با استفاده از الک 1 میلی-متری غربال شد و تجزیه تقریبی جیره آزمایشی با استفاده از روش ذکر شده در AOAC (4) اندازه‌گیری شد که به شرح جدول 1 است. به منظور افت pH در شرایط کشت ثابت جیره پایه از مخلوط 80 درصد کنسانتره و 20 درصد علوفه انتخاب شد.

کشت ثابت

در مرحله دوم آزمایش کشت ثابت مطابق با روش بلومل و همکاران (9) انجام شد. در این روش 500 میلی گرم ماده خشک جیره و50 میلی لیتر مخلوط مایع شکمبه و بزاق مصنوعی (به نسبت 1 به 2) در شیشه‌های 120 میلی لیتری بی هوازی، تحت جریان مداوم گاز دی اکسید کردن، قرار گرفت و فشار گاز تولیدی در زمان های 2، 4، 6، 8، 12، 24، 36، 48، 72 و 96 ساعت بعد از آغاز انکوباسیون با استفاده از فشار سنج کمی قرائت شد. برای انجام کشت ثابت مایع شکمبه از 2 رأس گاو هلشتاین دارای فیستولای شکمبه‌ای که با جیره کاملا مخلوط (50 درصد علوفه و 50 درصد کنسانتره) در 2 نوبت صبح (ساعت 6) و عصر (ساعت 17) و در حد احتیاجات نگهداری تغذیه می‌شدند، قبل از خوراک صبح گرفته شد و بلافاصله توسط چهار لایه پارچه متقال صاف گردید و به سرعت در فلاسک حاوی آب گرم (38 درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت توقف فعالیت میکروبی و اندازه‌گیری pH، قابلیت هضم ماده خشک و غلظت نیتروژن آمونیاکی ویال‌ها به داخل آب سرد منتقل گردید. اندازه‌گیری pH محیط کشت در زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون توسط pHمتر دیجیتال (مدل METROHM 727 PH LAB) انجام شد. جهت اندازه گیری مقدار ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون تنی طبق روش جهانی و همکاران (18) عمل شد (زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون)، بدین صورت که ابتدا نمونه‌ها با صافی 42 میکرومتر فیلترشده و مواد باقی مانده در دمای 60 درجه سانتی گراد به مدت 48 ساعت در آون قرار گرفتند و طبق فرمول $IVDMD = [A-(B-C)/A] \times 100$ محاسبه شد. که در این معادله، A = وزن ماده خشک نمونه، B= وزن بعد از انکوباسیون و C= وزن ظرف خالی فاقد رطوبت بود (واحدها برحسب گرم ماده خشک). نیتروژن آمونیاکی با استفاده از روش فنل-هیپوکلریت (10) اندازه‌گیری شد. در این روش 5 میلی‌لیتر مایع شکمبه در زمان‌های 8 و 24 ساعت پس از انکوباسیون صاف و با 333 میکرولیتر اسید کلریدریک 0/1 نرمال ترکیب شد و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد منجمد گردید. برای تعیین نیتروژن آمونیاکی 3 میلی‌لیتر مایع شکمبه به مدت 10 دقیقه با 1500 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. با استفاده از محلول‌های هیپوکلریت، فنول و محلول استاندارد کلریدآمونیوم آماده‌سازی انجام شد و غلظت این فراسنجه توسط دستگاه الایزا در طول موج 550 نانومتر تعیین شد.

معادلات و روش‌های آماری

داده‌های حاصل از ظرفیت بافری، شاخص ارزش بافری و pH در مرحله‌ی اول آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GLM تجزیه و تحلیل شد. فشار گاز تولیدی در زمان‌های مختلف انکوباسیون با استفاده از رابطه تئودور و همکاران (35) به صورت حجم گاز تولید شده در زمان تبدیل گردید. تولید تجمعی گاز در زمان‌های مختلف محاسبه شد و فراسنجه‌های تولید گاز شامل نرخ تولید گاز (c) و پتانسیل تولید گاز (b) بر اساس مدل آماری ارسکوف و مکدونالد (28) به‌صورت تجمعی در زمان 96 ساعت انکوباسیون برآورد گردید. در انتها داده‌های به دست آمده از غلظت نیتروژن آمونیاکی، pH و قابلیت هضم ماده خشک در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه9/4) و رویه GLM تجزیه و تحلیل آماری شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی-کرامر در سطح 5% خطا استفاده شد (33). مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

که در این معادله Y_{ij}: متغیر وابسته، μ: میانگین کل، T_i: اثر تیمارو ε_{ij}: اثر خطای آزمایش بود.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به ماده خشک، pH، ظرفیت و شاخص ارزش بافری نمونه‌های مورد آزمایش در جدول 1 ارائه شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که بین نمونه‌های مختلف از نظر pH تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P<0/05). بیشترین و کمترین مقدار pH به ترتیب در نمونه‌های گروه اکسید منیزیم و کربنات منیزیم مشاهده شد. بالاترین مقدار pH مربوط به نمونه اکسید منیزیم B (12/58) و پایین‌ترین مقدار را کربنات منیزیم A (6/30) بود. این مقادیر نشان می‌دهد که کاتیون‌های قلیایی قابل تبادل دربین لایه‌های ساختار نمونه اکسید منیزیم B بیش از سایر نمونه‌ها می‌باشد که با حل شدن در آب منجر به بالا رفتن میزان pH محلول شده است (26). ظرفیت و شاخص ارزش بافری در بین نمونه‌ها اختلاف آماری برخوردار بود (p<0/05). در بین نمونه‌ها بالاترین ظرفیت بافری مربوط به نمونه اکسید منیزیم A (386/888) و کمترین مقدار ظرفیت بافری را کربنات منیزیم D (0/666) داشت. همچنین بیشترین و کمترین مقدار شاخص ارزش بافری به ترتیب مربوط به نمونه‌های اکسید منیزیم A (177/377) و کربنات منیزیم A (93/198) بود. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج محرری (25) مطابقت نداشت، این محقق گزارش کرد که ظرفیت بافری بیکربنات سدیم بسیار بیشتر از اکسید منیزیم می‌باشد (188/33در مقابل 3/40 میلی‌اکی‌والان) . همچنین برخلاف نتایج این آزمایش لی‌رویت و تاکر (22)، با بررسی اثر چندین بافر بر ظرفیت بافری به این نتیجه رسیدند که که ترکیبات کربنات کلسیم و بی‌کربنات سدیم بیشترین مقدار ظرفیت بافری را نسبت به اکسید منیزیم داشتند. همچنین مهدوی‌راد و همکاران (23) گزارش کردند که ظرفیت بافری سسکوئی کربنات سدیم و بیکربنات سدیم بیشتر از اکسید منیزیم بوده و این ترکیبات مقادیر بیشتری اسید را خنثی می‌سازند که با یافته‌های این آزمایش هم‌خوانی ندارد. دلیل احتمالی تناقضات گزارش شده در این زمینه، می‌تواند به تفاوت‌های فیزیکوشیمیایی، درصد خلوص و وجود برخی ترکیبات فرعی مانند آهک و گچ، بین نمونه‌های مختلف معدنی مرتبط باشد. مجتهدی و وقارسیدین با بررسی تأثیر دما و زمان فرآوری بر تولید اکسید منیزیم از کربنات منیزیم، به این نتیجه رسیدند که این اثر می‌تواند در ظرفیت و شاخص ارزش بافری این نمونه بسیار تأثیر گذار باشد (نتایج گزارش نشده است).

با توجه به نتایج حاصل از مرحله‌ی اول ترکیبات کربنات منیزیم B، بنتونیت سدیم A و اکسید منیزیم A که ظرفیت بافری بالاتری را در بین نمونه‌ها از خود نشان داده بودند، انتخاب شدند و اثرات آنها بر فراسنجه‌های تولید گاز، هضم و تخمیر شکمبه‌ای در شرایط برون‌تنی مورد بررسی قرار گرفت. تولید گاز مربوط به فعالیت میکروبی حاصل از تخمیر کربوهیدارت‌ها به استات، پروپیونات و بوتیرات است. جیره‌ها یا افزدونی‌های معدنی زیادی می‌توانند سبب تغییر و یا کاهش تخمیر شوند (8 و 31). نتایج مربوط به گاز تولیدی در جدول 3 ارائه شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر پتانسیل تولید گاز در مدت 96 ساعت انکوباسیون تفاوت معنی‌داری وجود دارد و بیشترین مقدار پتانسیل تولید گاز در طول 96 ساعت انکوباسیون بین تیمارها مربوط به سطوح 3 درصد بیکربنات سدیم و 1 درصد کربنات منیزیم (به‌ترتیب 246/31 و 245/62 میلی‌لیتر) و کمترین مقدار این فراسنجه در سطح 3 درصد اکسید منیزیم (228/38 میلی‌لیتر) مشاهده شد. علاوه بر این نرخ تولید گاز نیز تحت تأثیر تیمارها قرار گرفت و بیشترین مقدار این فراسنجه در تیمار 1 درصد بیکربنات سدیم (0/056 میلی‌لیتر در ساعت) مشاهده شد، که از نظر آماری نیز معنی‌دار بود. این درحالی بود که سطح 3 درصد اکسید منیزیم با نرخ تولید گاز 0/047 (میلی‌لیتر در ساعت) کمترین مقدار این فراسنجه را از خود نشان داد. علاوه بر این در بین تیمارها سطح 3 درصد بنتونیت سدیم سبب کاهش پتانسل و نرخ تولید گاز در مقایسه با تیمار شاهد شد. محققین زیادی از روش تولید گاز برای برآورد ارزش کیفی بعضی از موادافزودنی، فرآوردهای خوارکی دامی، گیاهان و غیره استفاده کرده‌اند.

جدول2 ـ مقایسه ماده خشک، pH، ظرفیت بافری و شاخص ارزش بافری بین نمونه‌های مورد آزمایش[1]

Table 2- Comparison of dry matter, pH, buffering capacity and buffering value index between samples[1]

نمونه Sample	ماده خشک (درصد) DM (%)	pH	ظرفیت بافری (میلی‌اکی‌والان در لیتر) BC[2] (meq/L)	شاخص ارزش بافری BVI[3]
کربنات منیزیم A Magnesium carbonate A	99.80	6.21[c]	0.91[e]	93.19[e]
کربنات منیزیم B Magnesium carbonate B	99.98	6.88[c]	1.11[e]	98.54[e]
کربنات منیزیم C Magnesium carbonate C	99.86	6.48[c]	0.91[e]	95.78[e]
کربنات منیزیم D Magnesium carbonate D	99.85	7.91[b]	0.66[e]	99.99[e]
بیکربنات‌سدیم Sodium bicarbonate	99.94	8.61[b]	282.22[c]	156.41[bc]
بنتونیت‌سدیم A Sodium bentonite A	99.83	8.51[b]	3.11[e]	100.58[d]
بنتونیت‌سدیم B Sodium bentonite B	99.86	8.07[b]	1.55[e]	100.21[de]
اکسید منیزیم A Magnesium oxide A	99.98	12.46[a]	386.88[a]	177.37[a]
اکسید منیزیم B Magnesium oxide B	99.99	12.58[a]	282.66[c]	156.53[bc]
اکسید منیزیم C Magnesium oxide C	99.96	12.21[a]	248.22[d]	149.64[c]
اکسید منیزیم D Magnesium oxide D	99.98	12.19[a]	306.88[b]	161.37[b]
P-value	0.9820	0.0001	0.0001	0.0001
SEM	0.083	0.187	2.578	1.440

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

[1] Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
[2] Buffering capacity
[3] Buffering value index

(24، 38 و 39). هم‌راستا با نتایج این آزمایش، گزارشات بدست آمده از مطالعه وارادیوا و همکاران (38) نشان می‌دهد که مکمل‌های دولومیتی (کربنات منیزیم) ، تولید گاز در شرایط برون‌تنی را نسبت به تیمار فاقد مکمل افزایش می‌دهند. توضیح احتمالی این امر اثرات بافری مکمل‌های دولومیتی بر جلوگیری از تولید اسید حاصل از کربوهیدارت‌ها عنوان شده است (15، 16، 40). در مطالعه دیگر گاز تولیدی از مکمل کربنات منیزیم (دولومیت) در مقایسه با اکسید منیزیم و کربنات کلسیم بیشتر بود (38). نتایج این آزمایش گزارشات مائو و همکاران (24) را که عنوان نمودند تیمار حاوی بیکربنات سدیم سبب افزایش تولید گاز نسبت به تیمار کنترل می‌شود را تأیید می‌کند، هم راستا با نتایج این آزمایش مجتهدی (26) گزارش کرد که استفاده از 6 درصد نمونه‌های مختلف بنتونیت سدیم در محیط کشت سبب کاهش معنی‌دار تولید و نرخ گاز در مقایسه با تیمار شاهد شده است. هرچند مکانیسم دقیقی برای پاسخ به افزایش تولید گاز در افزودن مکمل‌هایی مانند بیکربنات سدیم و کربنات منیزیم شناخته شده نیست، اما یکی از این مکانیسم‌های پیشنهادی در افزایش تولید گاز، افزایش تعداد میکروب‌های شکمبه با افزودن این ترکیبات عنوان شده است. مشخص شده است که افزودن بیکربنات سدیم، شمار کل باکتری‌های شکمبه، باکتری‌های سلولایتیک و آمیلولایتیک در بوفالو را افزایش داده است (21). چندین مطالعه درباره اثر منیزیم بر متابولیسم شکمبه در شرایط درون‌تنی وجود دارد. در آزمایشات برون تنی به‌دنبال کمبود منیزیم در متابولیسم شکمبه، کاهش هضم سلولز و خوراک‌های علوفه‌ای مشاهده شده است. (40 و 3). افزودن منیزیم در شرایط برون‌تنی سبب بهبود فعالیت باکتری‌های سلولایتیک در محیط کشت می‌شود، این پاسخ در غیاب منگنز و زمانی که منیزیم جذب شده توسط میکروب‌ها طی فرآیند تخمیر مصرف می‌شود، خود را بهتر نشان می‌دهد (20). براساس نتایج این آزمایش اکسید منیزیم سبب کاهش تولید و نرخ تولید گاز می‌شود، که این نتایج تأیید کننده گزارشات وارادیوا و همکاران (39) در خصوص کاهش گاز تولیدی از مکمل‌های منیزیت کلسینه شده (اکسید منیزیم) در مقایسه با تیمار

شاهد می‌باشد. عنوان شده است که منیزیت‌هـای کلسـینه شـده اثـر آشکاری بر متانوژن‌ها داشته و از این طریق سبب کاهش تولید متان و در نتیجه کاهش حجم گاز تولیدی در طول انکوباسیون می‌گردنـد. از طرفی کاهش تولید متان با کاهش جمعیـت پروتـوزوآیی همبسـتگی مثبت دارد (38 و 39).

جدول 3- تأثیر سطوح مختلف ترکیبات بافری و آلکالایزری بر فراسنجه‌ها و حجم گاز تولیدی در مدت 96 ساعت انکوباسیون (میلی‌لیتر به ازای گرم ماده خشک)[1]

Table 3- Effect of different levels of buffer and alkalizer compounds on gas production parameters and volume after 96 h incubation (ml/DM)[1]

تیمار Treatment	سطح Level (%)	ضرایب تولید گاز Gas production Parameters	
		مقدار تولید گاز (b) Cumulative gas production (ml/g DM)	نرخ تولید گاز (c) Gas production rate (ml/h)
شاهد Control	0	242.93[b]	0.053[c]
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	1	245.62[a]	0.055[b]
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	3	237.37[c]	0.055[b]
اکسید منیزیم Magnesium oxide	1	235.86[c]	0.052[d]
اکسید منیزیم Magnesium oxide	3	228.38[d]	0.047[e]
بیکربنات‌سدیم Sodium bicarbonate	1	242.57[b]	0.056[a]
بیکربنات‌سدیم Sodium bicarbonate	3	246.31[a]	0.053[c]
بنتونیت‌سدیم Sodium bentonite	1	240.25[b]	0.053[c]
بنتونیت‌سدیم Sodium bentonite	3	236.13[c]	0.052[d]
P-Value	-	<0.0001	<0.0001
SEM	-	0.321	0.001

[1]میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (P<0/05).

[1]Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

تغییرات pH، IVDMD و غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در جدول 4 خلاصه شده است. بالاترین مقـدار pH مـایع شـکمبه در محیط کشت ثابت در زمان‌های 8 و 24 ساعت مربوط به نمونه‌هـای اکسید منیزیم سه درصد بود (به‌ترتیـب 6/84 و 6/77) کـه بـا سـایر نمونه‌های آزمایشی از نظر آماری اختلاف داشت (P<0/001) . دلیـل این مسئله بالا بودن ظرفیت بافری اکسید منیزیم است که به صورت خطی با افزایش مقدار این ماده، مقدار pH و مصـرف اسـید افـزایش می‌یابد. علاوه بر این ترکیبات کربنـات منیـزیم (سـطح 3 درصـد) و بنتونیت سدیم (سطح 1 درصد) نیز سبب افزایش معنی‌دار pH پس از 24 ساعت انکوباسیون در مقایسه با تیمار کنترل شـدند (P<0/001). کمترین مقدار pH در زمان 8 ساعت پس از انکوباسیون نیز مربوط به تیمار شاهد بود، که از نظر آماری با سایر تیمارها اختلاف داشت. هم‌سو با نتایج این آزمایش استفاده از 6 درصد بنتونیت سدیم در شرایط برون‌تنی باعث افزایش pH محیط کشت شده است (26). عنوان شده است که افزایش معنـی‌دار pH محـیط کشـت بـا افـزودن بنتونیـت می‌تواند به‌دلیل کاتیون‌های قابل تعویض با یون هیدروژن، به‌عنـوان تعدیل کننده یون هیدروژن در محیط کشت بوده و از کاهش شـدید pH شکمبه جلوگیری نماید (26). از آنجایی که مهمترین اثر بافرهـا حفظ و پایداری pH مایع شکمبه است، لذا هرچـه میـزان pH بـالاتر رود، هضم و تخمیر مواد خوراکی به واسطه میکروب‌ها بهبود می‌یابد. مطالعات مربوط به افزودن بیکربنات سدیم به جیره گاوهـای شـیری نشان می‌دهد که این ترکیب به افزایش pH (بوسیله بافری کردن) و افزایش نرخ رقت شکمبه کمک می‌کند (11 و 34). ماده خشک ناپدید شده در شرایط برون‌تنی شاخصی است که می‌تواند بـا میـزان هضـم دستگاه گوارش نشخوارکنندگان مرتبط باشد. بیشـترین مقـدار مـاده خشک ناپدید شده بعد از 8 و 24 ساعت انکوباسیون مربوط به تیمار 1 درصد کربنات منیزیم (به‌ترتیب 43/5 و 63/0 درصد) بود، که با سایر تیمارها از نظر آماری اختلاف معنی‌داری داشت. درصد مـاده خشـک

ناپدید شده توسط سطوح یک و سه درصد بنتونیت سدیم در مقایسه با تیمار شاهد به‌صورت عددی کاهش یافت ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین نتایج این آزمایش گزارشات مجتهدی (26) و جاسکوز و همکاران (19) را که عنوان کردند افزودن 2 تا 10 درصد بنتونیت سدیم سبب کاهش قابلیت هضم ماده خشک می‌گردد، تأیید می‌کند. به‌علاوه کمترین مقدار این فراسنجه در تیمار 3 درصد اکسید منیزیم مشاهده شد که با نتایج پیرز و همکاران (29) هم‌خوانی نداشت. این محققین گزارش نمودند که 0/5 درصد اکسید منیزیم سبب تغییر در قابلیت هضم ماده خشک در مقایسه با بیکربنات سدیم نمی‌گردد. از طرفی نتایج بدست آمده از این بخش از آزمایش با نتایج بدست آمده از تولید گاز همخوانی داشت و تیمارهای کربنات منیزیم و اکسید منیزیم که به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار گاز تولیدی را به خود اختصاص داده بودند، به همان نسبت قابلیت هضم ماده خشک را هم تحت تأثیر قرار دادند. به‌طور کلی بافرها و ترکیبات آلکالایزری اثری بر قابلیت هضم ماده خشک نداشته و احتمالاً کاهش این فراسنجه در تیمار اکسید منیزیم بیانگر تغییر جمعیت‌های میکروبی مایع شکمبه تحت تأثیر این تیمارها می‌باشد.

جدول 4- اثر سطوح مختلف ترکیبات بافری و آلکالایزری بر فراسنجه های تخمیر و قابلیت هضم ماده خشک در زمان‌های 8 و 24 ساعت[1]

Table 4- Effect of different levels of buffer and alkalizer compounds on the fermentation parameters and dry matter digestibility after 8 and 24h incubation[1]

تیمار Treatment	سطح Level (%)	pH		ماده خشک ناپدید شده (درصد) IVDMD (%)		نیتروژن آمونیاکی NH3-N (mmol/L)	
		8	24	8	24	8	24
شاهد Control	0	6.79^{d}	6.63^{cd}	42.64^{ab}	62.10^{a}	13.55	13.64
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	1	6.82^{cd}	6.64^{c}	43.54^{a}	63.02^{a}	13.73	13.58
کربنات منیزیم Magnesium carbonate	3	6.88^{b}	6.66^{b}	42.33^{a}	61.49^{a}	13.55	13.61
اکسید منیزیم Magnesium oxide	1	6.84^{c}	6.66^{b}	41.32^{ab}	60.09^{ab}	13.74	13.60
اکسید منیزیم Magnesium oxide	3	6.95^{a}	6.77^{a}	38.85^{b}	57.40^{b}	13.61	13.59
بیکربنات‌سدیم Sodium bicarbonate	1	6.84^{c}	6.64^{c}	43.89^{a}	62.88^{a}	13.73	13.78
بیکربنات‌سدیم Sodium bicarbonate	3	6.89^{b}	6.68^{b}	42.95^{ab}	62.70^{a}	13.56	13.65
بنتونیت‌سدیم Sodium bentonite	1	6.82^{cd}	6.68^{b}	42.14^{ab}	61.80^{a}	13.55	13.60
بنتونیت‌سدیم Sodium bentonite	3	6.86^{bc}	6.61^{d}	41.38^{ab}	60.79^{ab}	13.64	13.59
P-Value	-	<0.0001	<0.0001	0.0121	0.0009	0.1448	0.2443
SEM	-	0.006	0.006	0.331	0.345	0.022	0.018

[1] میانگین‌های هر ستون با حروف غیر مشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند ($P<0/05$).

[1] Means within same column with different superscripts differ ($P<0.05$).

علاوه بر این اختلاف معناداری در غلظت نیتروژن آمونیاکی بین تیمار شاهد و تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (P=0/2443). نتایج گزارش شده در ارتباط با تأثیر بافرها و آلکالایزرها بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه، تا حدودی متناقض است. هم راستا با نتایج این آزمایش، آقاشاهی و همکاران (1) گزارش کردند که افزودن 2 درصد بنتونیت سدیم به جیره تأثیر معنی‌داری بر غلظت نیتروژن آمونیاکی شکمبه نداشت، اما باعث کاهش نوسانات و افزایش یکنواختی نسبی غلظت نیتروژن آمونیاکی نسبت به تیمار شاهد می‌شود، درحالی‌که افزودن 4 درصد بنتونیت سدیم به‌طور مؤثری باعث کاهش غلظت نیتروژن آمونیاکی در زمان 4 ساعت پس از شروع انکوباسیون گردید. همین محققین عنوان کردند که استفاده از 4 درصد از بنتونیت، به‌طور مؤثری غلظت نیتروژن آمونیاکی را خصوصاً در ساعات اولیه پس از انکوباسیون کاهش داده و این اثر با بالا رفتن میزان تجزیه‌پذیری پروتئین بیشتر می‌شود. همچنین نتایج این آزمایش تأیید کننده گزارشات مائو و همکاران (24) است، که عنوان نمودند بیکربنات سدیم سبب تغییر غلظت نیتروژن آمونیاکی در مقایسه با تیمار شاهد

نمی‌شود. اعتقاد بر این است که برخی ترکیبات از قبیل بنتونیت‌ها، قادر به جذب و رهاسازی دوباره پروتئین‌ها و سایر سوبستراهای نیتروژنه هستند، از این رو وقتی تجمع آمونیاک در شکمبه بالا باشد، آن را جذب کرده و زمانی که غلظت آمونیاک کاهش یابد، مقدار زیادی از آن را آزاد می‌کنند و از این طریق باعث افزایش راندمان استفاده از آمونیاک و پروتئین در شکمبه می‌شوند (26، 32). عدم مشاهده تفاوت معنی‌دار در غلظت نیتروژن آمونیاکی محیط کشت در این آزمایش می‌تواند بدلیل عدم وجود مکمل پروتئینی و کم بودن پروتئین‌خام در جیره آزمایشی باشد. همچنین از آنجایی که ترکیبات مورد استفاده در این آزمایش به نوعی جاذب به شمار می‌روند می‌توانند اثرات مشابهی بر غلظت نیروژن آمونیاکی داشته باشند که سبب تأثیر یکسان آن‌ها بر غلظت این فراسنجه شده باشد.

میزان بافر مورد نیاز در جیرهٔ گاو شیری تابعی از مقدار ترشح بافر بزاقی، ظرفیت بافری خوراک و ارزش اسیدزایی خوراک، میزان مصرف خوراک، مادهٔ آلی قابل‌هضم و مقدار فیبر خوراک است. افزودن بافر هنگامی اهمیت می‌یابد که مقدار بافر تولید شده در بزاق و همچنین ظرفیت بافری مواد خوراکی تغذیه شده پائین باشد. بافرهای خوراکی به‌طور گسترده به‌منظور بهبود تأثیر زیان‌بار اسیدیته در جیره‌هایی با مواد متراکم بالا استفاده می‌شوند، اما پاسخ به بافرها متغیر و غیرقابل پیش‌بینی است (14)، لذا شاید یکی از علل تفاوت بین نتایج آزمایش‌های مختلف را بتوان به تفاوت در ترکیب جیره‌هایی که بافر در آنها استفاده می‌شود مرتبط دانست.

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج این آزمایش نشان دارد که اکسید منیزیم در عین حال که سبب افزایش pH مایع شکمبه می‌شود، اثرات منفی نیز بر فراسنجه‌های تولید گاز، تخمیر و احتمالاً فعالیت میکروبی دارد و موجب کاهش قابلیت هضم ماده خشک نیز می‌گردد. ولی کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم به عنوان یک بافر حقیقی و با توجه به حفظ و پایداری اسیدیته مایع شکمبه می‌توانند بدون داشتن اثرات منفی بر قابلیت هضم سبب بهبود شرایط تخمیر شوند، بنابراین استفاده از سطوح یک درصد کربنات منیزیم و بنتونیت سدیم به عنوان بافر حقیقی در جیره دام‌ها پیشنهاد می‌شود.

منابع

1- Aghashahi, A., A. Nikkhah., S. A. Mirhadi., M. Zahedifar, and H. Mansouri. 2005. Effects of different level of unprocessed bentonite, processed bentonite, and clinoptilolite at different rumen degradable protein level, on ammonia concentration, soluble and digestible protein (in-vitro). Pajouhesh and Sazandegi, 70: 80-90. (In Persian).

2- Agnote, M. 2004. Drought feeding and managing sheep. 4th. pp: 36. Victorian Government. Victoria, Australia.

3- Ammerman, C. B., C. F. Chicco., J. E. Moore., P. A. Van Wallenghem, and L. R. Arrington. 1971. Effect of dietary magnesium on voluntary feed intake and rumen fermentation. Journal of Dairy Science, 54(9), 1288-1292.

4- AOAC International. 2012. Official Methods of Analysis. 19th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

5- ASTM D2974-14. 2014. Standard Test Methods for Moisture, Ash, and Organic Matter of Peat and Other Organic Soils, ASTM International, West Conshohocken, PA.

6- ASTM D4972-13. 2013. Standard Test Method for pH of Soils, ASTM International, West Conshohocken, PA.

7- Beede D. K. 2017. Can we differentiate supplemental magnesium sources nutritionally? Tri-State Dairy Nutrition Conference. April. 17-19.

8- Bennink, M., R. T. R. Tyler., G.M. Ward, and D.E. Johnson. 1978. Ionic milieu of bovine and ovine rumen as affected by diets. Journal of Dairy Science, 61: 315–323.

9- Blümmel, M., H. P. S. Makkar, and K. Becker. 1997. In vitro gas production: a technique revisited. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 77: 24-34.

10- Broderick, G. A, and J.H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63: 64-75.

11- Chalupa, W., D. T. Galligan, and J. D. Ferguson. 1996. Animal nutrition and management in the 21st century: dairy cattle. Animal Feed Science and Technology, 58: 1-18.

12- Cruywagen C. W., S. Taylor., M. M. Beya, and T. Calitz. 2015. The effect of buffering dairy cow diets with limestone, calcareous marine algae, or sodium bicarbonate on ruminal pH profiles, production responses, and rumen fermentation Journal of dairy Science, 98: 5506-5514.

13- Danesh Mesgaran, M., J. Amini, and M. Paktinat. 2013. In vitro usage of various non-organic compounds to subdue acidogenic value and enhance the fermentation of alfalfa hay-based diets by mixed rumen microbiota. Journal of Livestock Production, 4(10): 165-170.

14- Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow: A review. Journal of Dairy Science, 71: 3246–3266

15- Goff, J.P., 2004. Macromineral disorders of the transition cow. VETERINARY Clinics of NORTH America, 20: 471–494.

16- Goff, J.P., 2006. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. Animal Feed Science Technology, 126: 237–257.
17- Horn, G. W., J. L. Gordon., E. C. Prigge, and F. N. Owens. 1979. Dietary buffers and ruminal and blood parameters of subclinical lactic acidosis in steers. Journal of Animal Science, 48(3): 683-691.
18- Jahani, A. H., M. Danesh Mesgaran., A. Vakili., K. Rezayazdi, and M. Hashemi. 2011. Effect of various medicinal plant essential oils obtained from semi-arid climate on rumen fermentation characteristics of a high forage diet using in vitro batch culture. African Journal Microbial Research, 5: 4812-4819.
19- Jacques, K.A., D. E. Axe., T. R. Harris, and D. L. Harmon. 1986. Effect of sodium bicarbonate and sodium bentonite on digestion, solid and liquid flow, and ruminal fermentation characteristics of forage sorghum silage-based diets fed to steers. Journal of Animal Science, 63: 923-932.
20- Komisarczuk-Bony, S, and M. Durand. 1991. Effects of minerals on microbial metabolism. In: Jouany, J.P. (Ed.), Rumen Microbial Metabolism and Ruminant Digestion. INRA Editions, Paris, 179–198.
21- Koul, Y., U. Kumar., K. Sareen, and S. Singh. 1998. Effect of sodium bicarbonate supplementation on ruminal microbial populations and metabolism in buffalo calves. Indian Journal Animal Science, 68(7): 629-631.
22- Le Ruyet, P, and W.B. Tucker. 1992. Ruminal Buffers: Temporal Effects on Buffering Capacity and pH of Ruminal Fluid from Cows Fed a High Concentrate Diet. Journal of Dairy Science, 75: 1069-1077
23- Mahdavi Rad, N., M. Chaji., M. Bojarpour, and M. Dehghanbanadaki. 2018. Investigation the buffering capacity of several conventional buffer compounds in feeding of ruminant animals by acid titration method and their effect on gas production parameters. Iranian Journal of Animal Science, 48 (4): 559-571. (in Farsi)
24- Mao, S., W, Huo., J. Liu., R. Zhang, and W. Zhu. 2017. In vitro effects of sodium bicarbonate buffer on rumen fermentation, levels of lipopolysaccharide and biogenic amine, and composition of rumen microbiota. Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(4): 1276-1285.
25- Moharrery, A. 2007. The determination of buffering capacity of some ruminant's feedstuffs and their cumulative effects on TMR ration. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2 (4):72-78.
26- Mojtahedi, M. 2013. Identification of nanostructure and nanoporous bentonite adsorbents and their efficiency on aflatoxin b_1 detoxification *in vitro* and *in vivo*. Ph.D. Dissertation. Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Persian)
27- Mojtahedi, M., M. Danesh Mesgaran., S. A. Vakili, and E. Abdi Ghezeljeh. 2013. Effect of esterified glucomannan on carryover of aflatoxin from feed to milk in lactating holstein dairy cows. Annual Review and Research in Biology, 3: 76-82.
28- Ørskov, E.R, and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradation in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agriculture Science, 92: 499–503.
29- Peirce, S.B., L. D. Muller, and H.W. Harpster. 1983. Influence of sodium bicarbonate and magnesium oxide on digestion and metabolism in yearling beef steers abruptly changed from high forage to high energy diets. Journal of Animal Science, 57(6): 1561-1567.
30- Perez-Ruchel, A., J. L. Repetto, and C. Cajarville. 2014. Use of NaHCO3 and MgO as additives for sheep fed only pasture for a restricted period of time per day: effects on intake, digestion and the rumen environment. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 98(6): 1068-1074.
31- Rayssiguier, Y, and C. Poncet. 1980. Effect of lactose supplement on digestion of Lucerne hay by sheep. II. Absorption of magnesium and calcium in the stomach. Journal of Animal Science, 51: 186–192.
32- Saleh, M. S, and A. B. Bonf. 2000. Bentonite supplementation to concentrate for lactating buffaloes. Egypt Journal of Nutrient Feeds, 6: 67-78.
33- SAS Institute Inc. 2009. Statistical Analysis System (SAS) User's Guide, SAS Institute, Cary, NC, USA.
34- Shaw, F. D, and W. J. Pryor. 1972. Feeding wheat to cattle. 2. The effect of level of wheat and sodium bicarbonate on ruminal characteristics. Australian Veterinary Journal, 48: 504-507.
35- Theodorou, M. K., B. A. Williams., M. S. Dhanoa., A. B. McAllan, and J. France. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology, 48: 185-197.
36- Tucker, W. B., J. F. Hogue., M. Aslam., M. Lema., M. Martin., F. N. Owens., I. S. Shin., P. Le Ruyet, and G. D. Adams. 1992. A buffer value index to evaluate effects of buffers on ruminal milieu in cows fed high or low concentrate, silage, or hay diets. Journal of Dairy Science, 75: 1069-1077.
37- Urdaz, J.H., J.E.P. Santos, P. Jardon, and M.W. Overton. 2003. Importance of appropriate amounts of magnesium in rations for dairy cows. Journal of the American Veterinary Medical Association, 222: 1518-1523.
38- Váradyová, Z., M. Baran., W. Zawadzki, and P. Siroka. 2003. Effect of dolomite, magnesium oxide (MgO) and chalk (CaCO3) on in vitro fermentation of amorphous and crystalline cellulose and meadow hay using inoculum from sheep. Berl Munch Tierarztl Wochenschr, 116(1-2): 50-54.
39- Váradyová, Z., S.K. Kisidayov., K. Mihalikov, and M. Baran. 2006. Influence of natural magnesium sources on the in vitro fermentation and protozoan population in the rumen fluid collected from sheep. Small Ruminant

Research, 61: 63–71.
40- Wilson, G.F. 1980. Effects of magnesium supplements on the digestion of forages and milk production of cows with hypomagnesaemia. Animal Production, 31: 153–157.

Investigation the buffering capacity of some native alkalizer and buffer compounds and their effect on fermentation and rumen digestion parameters *in vitro*

Seyed Morteza Vaghar Seyedin[1] Mohsen Mojtahedi [2*], Seyed Ehsan Ghiasi [2], Mohammad Hasan Fathi Nasri [3]

Received: 01-07-2018
Accepted: 09-10-2018

Introduction: Buffering and alkalizing supplements have been used in dairy cows in order to increase production and prevention of ruminal acidosis for many years. Magnesium carbonate is typically obtained from magnesite mines and magnesium oxide is produced by the calcification of magnesium carbonate (reduction, oxidation and burning or heating with extreme heat). Some minerals such as bentonite and zeolite have buffering properties and a special role in the buffering capacity of rumen cation exchange. Buffers raise acetate to propionate ratio and improve fiber digestion. The purpose of this experiment was to evaluate the buffering capacity (BC) and buffering value index (BVI) of some native buffer and alkalizer agents including sodium bentonite, magnesium carbonate, magnesium oxide and sodium bicarbonate and their effects on ruminal fermentation and digestion parameters *in vitro*.

Materials and Methods: The first experiment was performed with different types (11 samples) of buffer and alkalizer agents to determine the buffering Capacity (BC) and buffer Value Index (BVI). The experimental samples were including magnesium carbonate A (MgCA), magnesium carbonate B (MgCB), magnesium carbonate C (MgC C), magnesium carbonate D (MgC D), magnesium oxide A (MgOA), magnesium oxide B (MgOB), magnesium oxide C (MgOC), magnesium oxide D (MgOD), sodium bentonite A (SBeA), sodium bentonite B (SBeB) and sodium bicarbonate (SBi). The buffering capacity was defined as the resistance to change in pH from 7 to 5. In order to determine BC, individual samples were dried and ground to pass through 1-mm screen. Buffering capacity was determined by titrating the 30-ml solution under continuous stirring from its initial pH to 5 with 1 N HCl and by titrating a similar prepared solution of samples from its initial pH to 7 with 1 N NaOH. In the second experiment *in vitro* batch culture technique used. The basal diet contains 80 percent of the concentrate and 20 percent of the forage. half-gram (DM) of base ration with magnesium carbonate (MgC), magnesium oxide (MgO), sodium bentonite (SBe) and sodium bicarbonate (SBi) (1 and 3% DM of ration) were added into the culture vials, then incubated with 50 ml of buffered rumen fluid. Rumen fluid was collected from two ruminally fistulated cows. The gas production was estimated. *In vitro* dry matter disappearance (IVDMD), pH and ammonia nitrogen (NH_3-N) was measured after 8 and 24 h incubation times.

Results and Discussion: The results showed that the highest pH, buffering capacity and buffering value index were in MgOA and the least of these parameters indicated at MgCD, respectively. Compared to the control lower values were obtained for total gas production (b) of MgO 3%, MgC 3%, MgO 1% and SBe 3% additives. In the present study, addition of MgC and SBi (3% DM diet) also caused a remarkably increase in total gas production. Although the exact mechanisms are not known for the general responses in gas production to supplementation of MgC and SBi, one of the mechanisms of increasing total gas production is considered to be the higher ruminal microbial numbers caused by the SBi and MgC addition. It has been demonstrated that SBi addition increased the number of ruminal total bacteria, cellulolytic and amylolytic bacteria in buffalo. 3% MgO supplementation increased ($P < 0.05$) the final pH and it decreased ($P < 0.05$) the IVDMD compared with the control (after 24h incubation). Significant increase in pH by additive MgO and bentonite can be due to the exchange of cations with hydrogen ion as a modifier of hydrogen ion. Also, in this experiment use of SBe decreased digestibility of dry matter. Some researchers reported that 0.5% MgO (DM diet) does not change the digestibility of dry matter compared to sodium bicarbonate. On the other hand, results of this section of

1- Ph.D Student of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Iran.
2- Assistant Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
3- Professor of Animal Science Department, Faculty of Agriculture, University of Birjand, Birjand, Iran.
(* Corresponding Author’s Email: mojtahedi@birjand.ac.ir)
DOI:10.22067/ijasr.v11i4.73860

experiment was in agreement with results of gas production, MgC and MgO treatments which had the most and least amount of produced gas (respectively), these also affected digestibility of dry matter. Generally, buffers and alkalizing compounds have no effect on digestibility of dry matter, and probably this reduction in magnesium oxide treatment may indicated a change in the microbial population of ruminal fluid because of the effects of these treatments. In addition, Concentration of NH3-N did not differ ($P = 0.2443$) between the treatments. Some compounds, such as bentonites, are believed to be able to absorb and release proteins and other nitrogen substrates, so absorbing it when ammonia is high in the rumen, and when the ammonia concentration is reduced, a large amount of it released and thus increases the efficiency of ammonia and protein in the rumen.

Conclusion: In general, the results of this experiment show that magnesium oxide, while increasing the pH of the rumen fluid, also has negative effects on the parameters of gas production, fermentation and possibly microbial activity, and also reduces the *in vitro* digestibility of dry matter. However, magnesium carbonate and sodium bentonite as a true buffer and due to the preservation and stability of rumen fluid acidity can improve fermentation conditions without having a negative effect on digestibility, so using 1% magnesium carbonate and sodium bentonite as a true buffer is suggested in the livestock diet.

Keywords: Buffering capacity, Digestibility, Magnesium carbonate, Magnesium Oxide, Sodium bentonite.